云南三个地区马铃薯内生真菌多样性研究

田甲佳[1]，刘贺[1,2]，杨季婷[1]，王毅[2]，刘良燕[1*]

（1. 云南农业大学农学与生物技术学院，昆明 650201；2.云南省林业和草原科学院，云南省森林植物培育与开发利用重点实验室，昆明 650201）

摘 要：为研究云南马铃薯（*Solanum tuberosum*）内生真菌的多样性，该文以采自云南省德宏芒市、大理喜洲和临沧双江三个地区的马铃薯植株为研究对象，采用组织块分离法、尖端菌丝挑取法对马铃薯根、茎及块茎中的内生真菌进行分离纯化，然后采用形态学鉴定方法和 ITS 序列分析的方法对分离得到的内生真菌进行鉴定，并对内生真菌的定殖率、分离率及多样性指数进行计算和分析。结果表明：（1）该研究共分离得到内生真菌 98 株，其中从德宏芒市的样品中获得 40 株，从大理喜洲的样品中获得 27 株，从临沧双江的样品中分离得到 31 株。（2）经鉴定，分离得到的马铃薯内生真菌共涵盖 10 目 10 科 13 属，多为子囊菌门和担子菌门，优势菌为镰刀菌属（*Fusarium*）和青霉属（*Penicillium*）。褶皱裸胞壳（*Emericella rugulosa*）、接骨木镰刀菌（*Fusarium sambucinum*）、毛韧革菌（*Stereum hirsutum*）、*Psathyrella sulcatotuberculosa* 和 *Epicoccum catenisporum* 5 种真菌首次从马铃薯植株中分离得到。（3）马铃薯块茎内生真菌的定殖率最高，根部内生真菌定殖率最低；而内生真菌的分离率以马铃薯根部为最高，茎部最低。不同组织中内生真菌的多样性指数趋势均为根>块茎>茎。综合来看，云南马铃薯植株中的内生真菌具有较高的多样性，不同地区的马铃薯样品中内生真菌优势菌不同，马铃薯根部具有最丰富的内生真菌种群和最高的分离率，因此是最适合进行内生真菌分离的材料。以上研究结果为后期探究马铃薯内生真菌对病原菌的拮抗作用奠定基础。

关键词：内生真菌，ITS 序列分析，定殖率，分离率，分离频率，香农多样性指数

Diversity of endophytic fungi isolated from *Solanum tuberosum* in three regions of Yunnan

---

基金项目：国家自然科学基金（31870340）； 云南省高层次人才培养计划“青年拔尖人才”专项（YNWR-QNBJ-2019-062）。

第一作者：田甲佳(1997 -)，硕士研究生，研究方向为马铃薯内生真菌化学成分分析，（E-mail）jiajiat55@163.com。

***通信作者：**刘良燕，理学博士，副教授，研究方向为马铃薯真菌病害生物防治研究，（E-mail：liliy213@126.com）。

TIAN Jiajia[1], LIU He[1,2], YANG Jiting[1], WANG Yi[2], LIU Liangyan[1*]

(1. *College of Agronomy and Biotechnology*, *Yunnan Agricultural University*, Kunming 650201, China; 2. *Yunnan Academy of Forestry and Grassland*, *Yunnan Key Laboratory of Forest Plant Cultivation and Utilization*, Kunming 650201, China)

Abstract: Plant endophytic fungal is an important biological resource and have shown significant applications in medicine and in the biological control of agricultural pests and diseases. This study focused on the diversity of endophytic fungi of potato (*Solanum tuberosum*) samples from three regions of Yunnan Province, namely, Mangshi City in Dehong Prefecture, Xizhou County in Dali Prefecture, and Shuangjiang County in Lincang City. The tissue blocks of prepared potato roots, stems and tubers were isolated and cultured using the method of tissue block isolation. Well-grown colonies were purified using the method of tip mycelium selection. The endophytic fungi were identified by morphological methods and ITS sequence analysis. Then, the colonization rate, isolation rate and diversity index of the endophytic fungi were calculated and analyzed. The results were as follows: (1) A total of 98 endophytic fungi were isolated, including 40 strains samples from Mangshi City in Dehong Prefecture, 27 strains from Xizhou County in Dali Prefecture and 31 strains from Shuangjiang County in Lincang City. (2) The endophytic fungi isolated from potatoes were identified to include 10 orders, 10 families and 13 genera, mostly of the Ascomycota and Basidiomycota, with *Fusarium* and *Penicillium* as the dominant fungi. Five species of fungi, *Emericella rugulosa*, *Fusarium sambucinum*, *Stereum hirsutum*, *Psathyrella sulcatotuberculosa* and *Epicoccum catenisporum* were first reported to be isolated from potato plants. (3) Potato tubers had the highest colonization rate of endophytic fungi and roots had the lowest; while the isolation rate of endophytic fungi was highest in potato roots and lowest in stems. The trend of diversity index of endophytic fungi in different tissues were $H'_{root} > H'_{tuber} > H'_{stem}$. In conclusion, the endophytic fungi in Yunnan potato plants are highly diverse, with different endophytic fungal dominants in potato samples among the three localities. Potato roots have the richest endophytic fungal populations and the highest isolation rate, and are therefore the most suitable material for endophytic fungal isolation. The above results provide a basis for later investigation of the antagonistic effect of endophytic fungi on pathogens in potato.

Keywords: endophytic fungi, analysis of ITS sequence, colonization rate, isolation rate, isolation frequency, Shannon-Wiener index

植物内生真菌是指在植物的整个或某一生长阶段内，在健康植物组织或器官内寄居并

进行繁殖，同时不会引起寄主植物发生明显感染症状的真菌（Porras & Bayman, 2011），其广泛存在于植物中，与寄主植物进化过程时建立协同进化、互利共生关系（孙建慧，2018；任静，2020）。已有研究发现，植物内生真菌既能增强植物光合特性，提高植物对营养元素的吸收率，又能提高植物在逆境条件下的抗胁迫能力以及产生植物激素来调节植物生长（隋丽等，2021）。同种内生真菌在不同宿主植物中表现的作用和产生的次生代谢产物截然不同。

近年来，有研究从植物内生真菌中分离出含有多种生物活性的天然代谢产物，包括生物碱、黄酮、醌类、环肽、萜类、甾体等化合物，这些化学成分可表现出抗菌、抗虫、抗病毒等多种生物活性（Li et al., 2007；易晓华，2009；张亮等，2017；赵鑫等，2020；李慧媛等，2022）。植物内生真菌及其代谢产物在医药领域、农业病虫害生物防治方面都显示出重要的应用价值。吴启婷等（2022）从白术（*Atractylodes macrocephala*）中分离出 1 株拟茎点霉属（*Phomopsis* sp.）内生真菌对白术根腐病病原菌（*Fusarium oxysporum*、*Fusarium solani*、*Fusarium incarnatum*）有较强拮抗作用；陆洁淼等（2022）从西红花（*Crocus sativus*）中筛选出 8 株内生真菌对尖孢镰刀菌（*Fusarium oxysporum*）有显著拮抗作用，其中抑制效果最好的菌株经鉴定为栓菌属真菌变色栓菌（*Trametes versicolor*）；黄婷等（2019）从白屈菜（*Chelidonium majus*）中分离出刺盘孢属（*Colletotrichum*）和镰刀菌属（*Fusarium*）内生真菌，发现其代谢产物对苹果炭疽菌（*Colletotrichum gloeosporioides*）、玉米弯孢（*Curvularia lunata*）、水稻稻瘟菌（*Pyricularia oryza*）、烟草赤星菌（*Alternaria alternate*）和白菜黑斑菌（*A. brassicae*）均表现出抗菌活性。还有研究发现植物内生真菌提取物 ZNC 对马铃薯晚疫病具有超高的促生长、促产量和诱导抗病活性（Cao et al., 2021）。可见植物内生真菌是抗植物真菌病害的生物源农药的资源库，而目前对植物内生真菌的研究大多将注意力集中在药用植物的内生真菌上，对于农作物内生真菌的研究涉及较少。

马铃薯（*Solanum tuberosum*）是继玉米、水稻、小麦之后的第四大粮食作物（马雪等，2014；邬时民，2015），其营养价值丰富、粮菜兼用，且马铃薯面粉储备时间长，是国家粮食安全的重要保障。云南是我国西南地区主要马铃薯产地，马铃薯产业已成为云南贫困地区农民脱贫致富的重要支柱产业（卢丽丽等，2018）。马铃薯产量及品质受真菌病害影响很大，目前主要使用化学农药对真菌病害进行防治，但是化学药剂会对环境及人畜健康造成极大威胁，因此生物防治成为马铃薯真菌病害防控的研究热点。有学者发现马铃薯内生菌对真菌病原体（尖孢镰刀菌、立枯丝核菌、禾谷镰刀菌、灰葡萄孢菌等）、细菌病原体（疮痂链霉菌、黄单胞菌）和内生毒素龙葵碱等有抑制作用（Sessitsch et al., 2004；王

剑峰，2012；艾洪莲等，2017；郑旭，2019；张家欣，2022）。因此，本研究对云南省三个地区的马铃薯的根、茎、块茎中内生真菌进行分离纯化，并通过观察其微观形态和分析其 ITS 序列鉴定真菌，在此基础上对内生真菌的组成及相关多样性指数进行分析比较，拟探讨以下问题：（1）马铃薯内生真菌种群的多样性；（2）马铃薯不同组织部位内生真菌的分离率和定殖率；（3）不同地区内生真菌的优势菌属及不同部位内生真菌的多样性指数。以期能够丰富马铃薯内生真菌种群，为进一步深入研究这些内生真菌及代谢产物对马铃薯真菌病害的抑制作用提供物质基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试植物

马铃薯健康植株于 2020 年 5 月采于云南省德宏芒市、大理喜洲和临沧双江。在盛花期采集完整植株，包括地上部分及地下部分，实验材料选取地上部分的主茎（冠层以下 10 cm 及露出土层外的上 10 cm）及地下部分根（须状根）和块茎，主根约长 40 cm，茎长 80~100 cm，块茎大小约 8 cm×5 cm。采集完毕后立即带回实验室进行后续马铃薯内生真菌的分离。

1.1.2 试验培养基

马铃薯葡萄糖琼脂培养基（PDA）：成品培养基。

MY 培养基：21 g 酵母麦芽浸粉肉汤，15 g 琼脂，加蒸馏水至 1 000 mL，121 ℃灭菌 20 min。

1.2 内生真菌的分离纯化

消毒：将马铃薯根、茎、块茎表面杂物用自来水反复冲洗 3~4 次后再用无菌水冲洗干净，沥干水分。将材料用无菌刀切成小段，将小段放于 50 mL 无菌离心管中，依次用 75% 乙醇、无菌水和 10 mL 配置好的 5% H_2O_2 浸泡 3 min，期间不断震荡，最后再用无菌水冲洗 3 次。将经消毒后的组织置于无菌滤纸上，吸干表面多余水分后将根、茎、块茎切成 5 mm×5 mm 的小块。为检验消毒是否彻底，依次设置两组对照：其一，吸取 100 μL 最后一次清洗组织块的无菌水至新鲜无菌 PDA 培养皿上，用无菌涂布器涂布均匀；其二，使用按压法，将消毒的组织块放至新鲜无菌 PDA 平板上，稍加按压，放置 20 min 后移去组织块，每组处理设置 3 个平行。将以上两种不同方法处理的对照放至培养箱中 26 ℃进行培养，观察有无菌落长出，以明确组织块消毒是否彻底。

分离纯化：将准备好的小组织块采用组织块接种法（韦艳梅等，2016）等距离放在含有氨苄青霉素（50 mg·mL^{-1}）和卡拉霉素（10 mg·mL^{-1}）的 MY 培养皿中，每个培养皿放

置 8~10 个组织块，培养皿做好标记后倒置放于 26 ℃生化培养箱中培养，培养 7 d 左右，期间不定期观察组织下方或者边缘处是否有菌落出现，根据菌落生长形态、颜色和时间等，采用尖端菌丝挑取法（吴小平等，2009）及时将单个菌落的新鲜菌丝挑出，转接到 30 mm PDA 培养皿中，倒置于 26 ℃生化培养箱中培养观察。反复多次转接培养以获得形态一致的单一菌落，即为纯化好的内生真菌菌株。最后转接到 60 mm 培养皿中，标记名称及转接日期，放置在 26 ℃培养箱中培养 3~10 d，平板没有污染，待长满培养皿后于 4 ℃冰箱保存。

1.3 内生真菌的鉴定

1.3.1 形态学鉴定

挑取少量各菌种菌丝体置于载玻片上，添加乳酸酚棉兰染色液，使菌丝染色，同时使用接种针将菌丝挑拨松散后从一侧缓慢盖上盖玻片，并在蔡司显微镜下观察，记录显微镜下各菌株菌丝的形态特征。根据传统的形态学鉴定方法，结合《真菌鉴定手册》和《真菌的形态和分类》等参考资料对内生真菌菌株进行初步鉴定（魏景超，1979；戴芳澜，1987）。

1.3.2 分子生物学鉴定

采用改良的 CTAB 法对马铃薯内生真菌菌株进行 DNA 提取（张妙彬等，2009）。参考相关文献方法（易天凤等，2019），利用内生真菌通用引物 ITS1（5’-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3’）和 ITS4（5’-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3’）对真菌的 ITS 序列进行扩增。PCR 反应体系为 30 μL，包括：模板 DNA 2 μL，引物 1×2 μL，2×Taq PCR MasterMix 15 μL，ddH$_2$O 11 μL。PCR 反应扩增程序为：99 ℃预变性 5 min，94 ℃变性 30 s，52 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 1 min，共 35 个循环，72 ℃延伸 7 min。

琼脂糖电泳检测合格后的目的产物送至上海生工生物工程有限公司进行测序，登录 NCBI（http://www.ncbi.nlm.nih.gov/），将 ITS 测序结果上传至 NCBI 核酸序列数据库与已知序列进行比对，选择相似性高的序列进行分析。利用 MEGA-7.0 软件，采用邻接法（Neighbor joining）构建系统发育树。

1.4 内生真菌数据分析

1.4.1 定殖率（colonization rate, CR） 定殖率 = 在培养基中分离出的内生真菌组织块数/所有组织块数×100%（Kátia et al., 2016）。内生真菌的定殖率反映了宿主植物不同组织部位中受内生真菌侵染的程度。

1.4.2 分离率（isolation rate, IR） 分离率 = 培养基中分离的内生真菌总株数/总分离组织块数×100%（康茜，2017）。分离率反映了宿主植物不同组织部位中内生真菌存在的丰度。

1.4.3 分离频率（isolation frequency, IF） 指某一指定类型真菌的菌株数量占分离培养的

内生真菌菌株数量的百分率，用于比较和判断优势菌群（柴新义等，2016）。

1.4.4 Shannon-Wiener index（H'）多样性指数　反映了分离的内生真菌中的物种丰富度。香农多样性指数计算公式计算：$H'=-\sum_{i=1}^{k} Pi\times\ln Pi$。式中：$k$ 指某种植物或组织中内生真菌种类的总数；Pi 表示植物组织中分离出来的某一种内生真菌的株数占分离得到的总菌株数的百分数（Zhao et al., 2020）。

2 结果与分析

2.1 马铃薯内生真菌的分离

2.1.1 不同地区马铃薯内生真菌分离情况

不同组织部位间马铃薯内生真菌的分离数量有一定差异性，利用组织块分离法和尖端菌丝挑取法从云南省德宏芒市、大理喜洲、临沧双江三个地区马铃薯组织样品中共分离出 98 株内生真菌（表 1）。其中，从来自德宏芒市的样品中分离出 40 株、从大理喜洲的马铃薯样品中分离出 27 株、从临沧双江的样品中分离出 31 株，分别占总分离株数的 40.82%、27.55%和 31.63%。

表 1 马铃薯内生真菌分离情况

Table 1 Isolation of endophytic fungi from *Solanum tuberosum*

来源 Source	部位 Tissue	分离株数 Number of strains	总菌株数 Total number of strains	占比 Percentage (%)
德宏芒市 Dehong mangshi	根 Root	17	40	40.82
	茎 Stem	8		
	块茎 Tuber	15		
大理喜洲 Dali xizhou	根 Root	14	27	27.55
	茎 Stem	2		
	块茎 Tuber	11		
临沧双江 Lincang shuangjiang	根 Root	13	31	31.63
	茎 Stem	4		
	块茎 Tuber	14		

2.1.2 内生真菌定殖率和分离率

分离得到的 98 株内生真菌中，有 44 株来自根部，14 株来自茎部，40 株来自块茎（表 2）。根、茎、块茎中内生真菌的定殖率分别为 68.33%、65.00%、76.67%，表明块茎中内生真菌定殖率最高。马铃薯根部、茎部和块茎中内生真菌的分离率分别为 73.33%、23.33%、

66.67%，根部分离率最高。马铃薯组织中内生真菌总定殖率和总分离率分别为 70.00%和 54.44%。

表 **2** 马铃薯不同组织部位内生真菌分离率和定殖率

Table 2 Isolation rate and colonization rate of endophytic fungi in different tissue parts of *Solanum tuberosum*

项目 Item	根 Root	茎 Stem	块茎 Tuber	总数 Total
组织块数（块） Tissue block (block)	60	60	60	180
长菌块数（块） Number of growing endophytic fungi (block)	41	39	46	126
内生真菌数（株） Number of endophytic fungi (strain)	44	14	40	98
定殖率 Colonization rate (%)	68.33	65.00	76.67	70.00
分离率 Isolation rate (%)	73.33	23.33	66.67	54.44

2.2 马铃薯内生真菌的鉴定

2.2.1 内生真菌的形态学鉴定

通过形态学观察（菌落观察和显微镜下菌丝体观察）（图 1）及分子生物学技术（ITS）鉴定，98 株内生真菌多为子囊菌门和担子菌门，包含 13 属 14 种（表 3），分别为构巢曲霉（*Aspergillus nidulans*）、褶皱裸胞壳（*Emericella rugulosa*）、局限青霉（*Penicillium restrictum*）、长极链格孢（*Alternaria longissima*）、尖孢镰刀菌（*Fusarium oxysporum*）、接骨木镰刀菌（*Fusarium sambucinum*）、哈茨木霉（*Trichoderma harzianum*）、*Pseudopyrenochaeta terrestris*、*Plectosphaerella plurivora*、毛韧革菌（*Stereum hirsutum*）、*Colletotrichum boninense*、*Psathyrella sulcatotuberculosa*、*Epicoccum catenisporum* 和 *Cercospora musigena*，分别将其命名为 M1~M14。

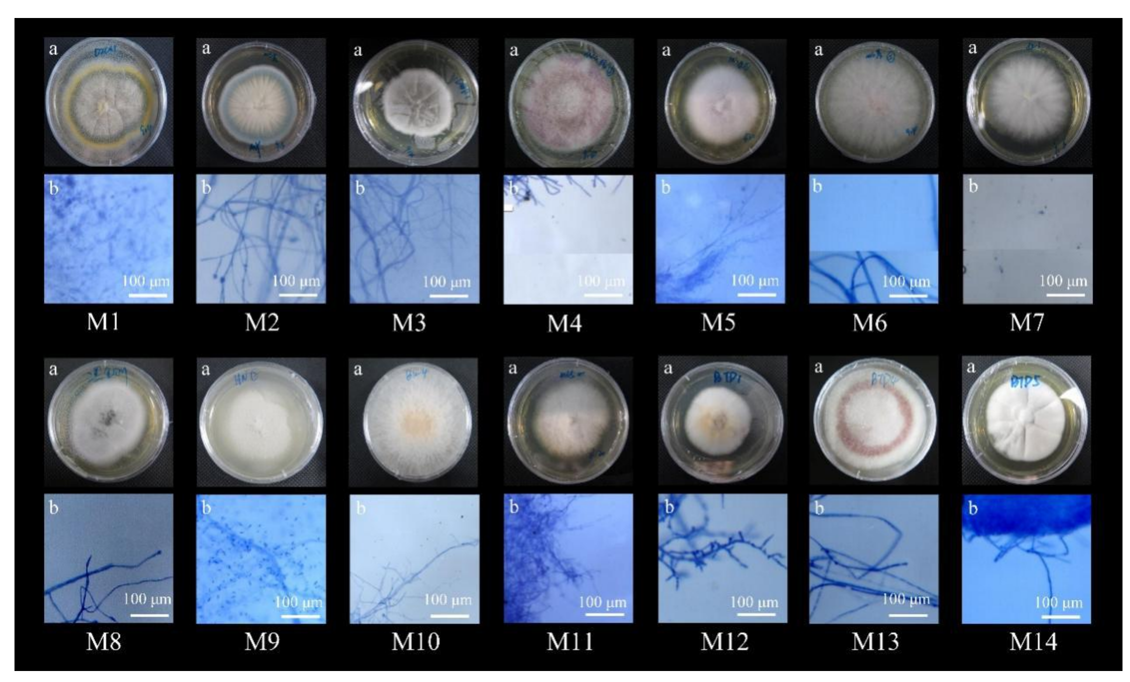


图 1 马铃薯内生真菌菌落形态（a）和菌丝体形态（b）

Fig. 1 Colonies (**a**) and Myceliums (**b**) of the endophytic fungi from *Solanum tuberosum*

表 3 马铃薯内生真菌菌落形态特征

Table 3 Morphological characteristics of *Solanum tuberosum* endophytic fungal colonies

分离菌株 Isolate strain	主要菌落形态特征 Main characteristics of colony	主要菌丝形态特征 Main morphological characteristics of mycelium	种属 Species
M1 构巢曲霉 *Aspergillus nidulans*	菌落圆形，生长较快，质地较硬，浅绿色，菌落表面为绒状，菌丝体较发达，产生大量闭囊壳时会出现黄褐色 Round colonies, fast growth, hard texture, light green, colony surface is downy, mycelium more developed, produce a large number of closed shell will appear yellow-brown	菌丝细长，有分支，分生孢子头部呈短柱型 The mycelium is slender, with branches, the head of conidia is short columnar	子囊菌门，散囊菌纲，散囊菌目，曲霉科，曲霉属 Ascomycota, Eurotiomycetes, Eurotiales, Aspergillaceae, *Aspergillus*
M2 褶皱裸胞壳 *Emericella rugulosa*	菌落圆形，具有辐射状沟纹，菌丝体密集，菌落边缘整齐且呈暗草绿色，质地紧密无外渗液体 Round colonies, with radial grooves, mycelium dense, colony edge is neat and dark grass green, dense texture without exuding liquid	子囊近球形，菌丝体细长，有分支，子囊孢子呈双凸镜状，分生孢子不明显 Oocysts subglobose, mycelium elongated, with branches, ascospores biconvex mirror, conidia inconspicuous	子囊菌门，散囊菌纲，散囊菌目，曲霉科，裸孢壳属 Ascomycota, Eurotiomycetes, Eurotiales, Aspergillaceae, *Emericella*
M3 局限青霉 *Penicillium restrictum*	菌落多圆形，起初为白色，生长后期变为青灰色，菌丝体较发达，呈绒状，边	菌丝分支多，有隔，有少量突起，分生孢子梗直立 The mycelium has many	子囊菌门，散囊菌纲，散囊菌目，曲霉科，青霉属

	缘部分整齐，在菌落上有时出现白色小突起 More colonies are round, white at first, greenish gray at the later stage of growth, mycelium is more developed, velvety, the edge is partly neat, sometimes there are small white protrusions on the colony	branches, septate, with a small number of protrusions, conidial peduncle erect	Ascomycota, Eurotiomycetes, Eurotiales, Aspergillaceae, *Penicillium*
M4 长极链格孢 *Alternaria longissima*	菌落不规则圆形，菌丝发达，生长迅速，菌落为棉絮状，边缘菌丝纤维丝状，颜色为白色，培养基呈红褐色 Irregular round colonies, mycelium developed, growing rapidly, the colony is cotton wool, the edge of the mycelium fiber filamentous, the color is white, the medium is reddish brown	菌丝较为密集，长絮状 The mycelium is denser and flocculent	子囊菌门，座囊菌纲，格孢菌目，格孢菌科，链格孢属 Ascomycota, Dothideomycetes, Pleosporales, Pleosporaceae, *Alternaria*
M5 尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum*	菌落圆形，菌丝为白色絮状，质地较紧密，生长快速，整体菌落颜色为淡红色或者紫色 Round colonies, white flocculent mycelium, dense texture, fast growth, overall colony color is light red or purple	菌丝分支多且细长，小的分生孢子呈现卵圆形 The mycelium has many branches, slender， mall conidia are ovoid	子囊菌门，粪壳菌纲，肉座菌目，丛赤壳科，镰刀菌属 Ascomycota, Sordariomycetes, Hypocreales, Nectriaceae, *Fusarium*
M6 接骨木镰刀菌 *Fusarium sambucinum*	菌落圆形，菌丝生长迅速，颜色为淡粉红色，气生菌丝丛呈现卷毛状 Round colonies, the mycelium grows rapidly, the color is light pink, the aerial mycelium tufts show curly hair	菌丝具有分支，分生孢子形状多样，有纺锤形、披针形等 The mycelium has branching, the conidia have various shapes, such as fusiform, lanceolate, etc	子囊菌门，粪壳菌纲，肉座菌目，丛赤壳科，镰刀菌属 Ascomycota, Sordariomycetes, Hypocreales, Nectriaceae, *Fusarium*
M7 哈茨木霉 *Trichoderma harzianum*	菌落圆形，菌丝初期为白色，后期为灰色，向培养皿四周扩散生长，待孢子生长后菌落变为绿色，菌落边缘有白色条带 Round colonies, the mycelium is white at the beginning, gray at the later stage, spread and grow around the petri dish, the colony becomes green after the spores grow, there are white stripes at the edge of	菌丝细长，有大量分生孢子，分生孢子单生 The mycelium slender, with a large number of conidia, conidia solitary	子囊菌门，粪壳菌纲纲，肉座菌目，肉座菌科，木霉属 Ascomycota, Sordariomycetes, Hypocreales, Hypocreaceae, *Trichoderma*

	the colony		
M8 *Pseudopyrenochaeta terrestris*	菌落不规则圆形，质地紧密，没有外渗液，菌丝暗灰色，菌落边缘白色，菌丝体为绒毡状 Irregularly round colonies, compact texture, no extravasation, dark gray hyphae, white colony edges, tapetum-like mycelium	菌丝体具有较多分支，菌丝体上有明显疣突 The mycelium with more branches, with obvious warts on mycelium	子囊菌门，座囊菌纲，格孢菌目，格孢菌科，须壳孢属 Ascomycota, Dothideomycetes, Plesporales, Pleosporineae, *Pseudopyrenochaeta*
M9 *Plectosphaerella plurivora*	菌落圆形，生长较慢，菌丝乳白色，为绒毡状，培养基上有外渗液，培养基无可溶性色素 Round colonies, slow growth, mycelium creamy white, felted, extravasation on the medium, medium without soluble pigment	菌丝体有分支，分生孢子较多，簇生或者单生 The mycelium is branched, with many conidia, clustered or solitary	子囊菌门，粪壳菌纲，小丛壳目，小不整球壳科，小不整球壳属 Ascomycota, Sordariomycetes, Glomerellales, Plectosphaerellaceae, *Plectosphaerella*
M10 毛韧革菌 *Stereum hirsutum*	菌落圆形，菌丝白色至淡黄色，生长较快，气生菌丝绒毛状，质地疏松 Round colonies, mycelium white to yellowish, fast growth, aerial mycelium fluffy, lax texture	菌丝体细长，分支较多，担孢子为圆柱形 The mycelium is elongated, more branching, the stamens are cylindrical	担子菌门，伞菌纲，红菇目，韧革菌科，韧革菌属 Basidiomycota, Agaricomycetes, Russulales. Stereaceae, *Stereum*
M11 *Colletotrichum boninense*	菌落圆形，菌丝绒毡或絮状，菌落生长较慢，质地较密，无外渗液，菌落白色 Round colonies, mycelium felted or flocculent, colony growth is slow, dense texture, no exudate, colony white	菌丝分支多，有隔，分生孢子排列较疏松，无色 The mycelium has many branches ,septate, and the conidia are loosely arranged and colorless	子囊菌门，粪壳菌纲，小丛壳目，小丛壳科，刺盘孢属 Ascomycota, Sordariomycetes, Glomerellales, Glomerellaceae, *Colletotrichum*
M12 *Psathyrella sulcatotuberculosa*	菌落圆形，生长较慢，菌丝短而密集，带有浅黄色，无外渗液，质地较密，菌丝绒毛状 Colony round, slow growth, short and dense mycelium, with light yellow, no exudate, dense texture, mycelium fluffy	菌丝分支多，有隔，在菌丝上有明显凸起，菌丝体顶端钝圆 The mycelium has many branches, septate, with obvious projections on the mycelium and bluntly rounded tips of mycelium	担子菌门，伞菌纲，伞菌目，鬼伞科，脆柄菇属 Basidiomycota, Agaricomycetes, Agaricales, Psathyrellaceae, *Psathyrella*
M13 *Epicoccum catenisporum*	菌落圆形，丝绒垫状，菌丝生长旺盛，菌丝初期为白色，后期变为浅红至黄色，培养基颜色变黄，无外渗液出现 Colony round, velvet mat, mycelium growth is	菌丝呈线形，有隔，菌丝上着生垫状孢子座 The mycelium is linear, septate, with cushion-like sporangia on mycelium	子囊菌门，座囊菌纲，格孢菌目，亚隔孢壳科，附球菌属 Ascomycota, Dothideomycetes, Plesporales,

	vigorous, the mycelium is white at the beginning, later become light red to yellow, the color of the medium becomes yellow, no exudate appears		Didymellaceae, *Epicoccum*
M14 *Cercospora musigena*	菌落圆形，有裂痕，生长缓慢，质地较密，无外渗液，菌丝为白色，培养基无色 Colonies round, with cracks, slow growth, dense texture, no exudate, mycelium is white, the medium is colorless	菌丝体密集，有隔，分生孢子圆柱形 The mycelium dense, septate, conidia cylindrical	子囊菌门、座囊菌纲、球腔菌目、球腔菌科、尾孢菌属 Ascomycota, Dothideomycetes, Mycosphaerellales, Mycosphaerellaceae, *Cercospora*

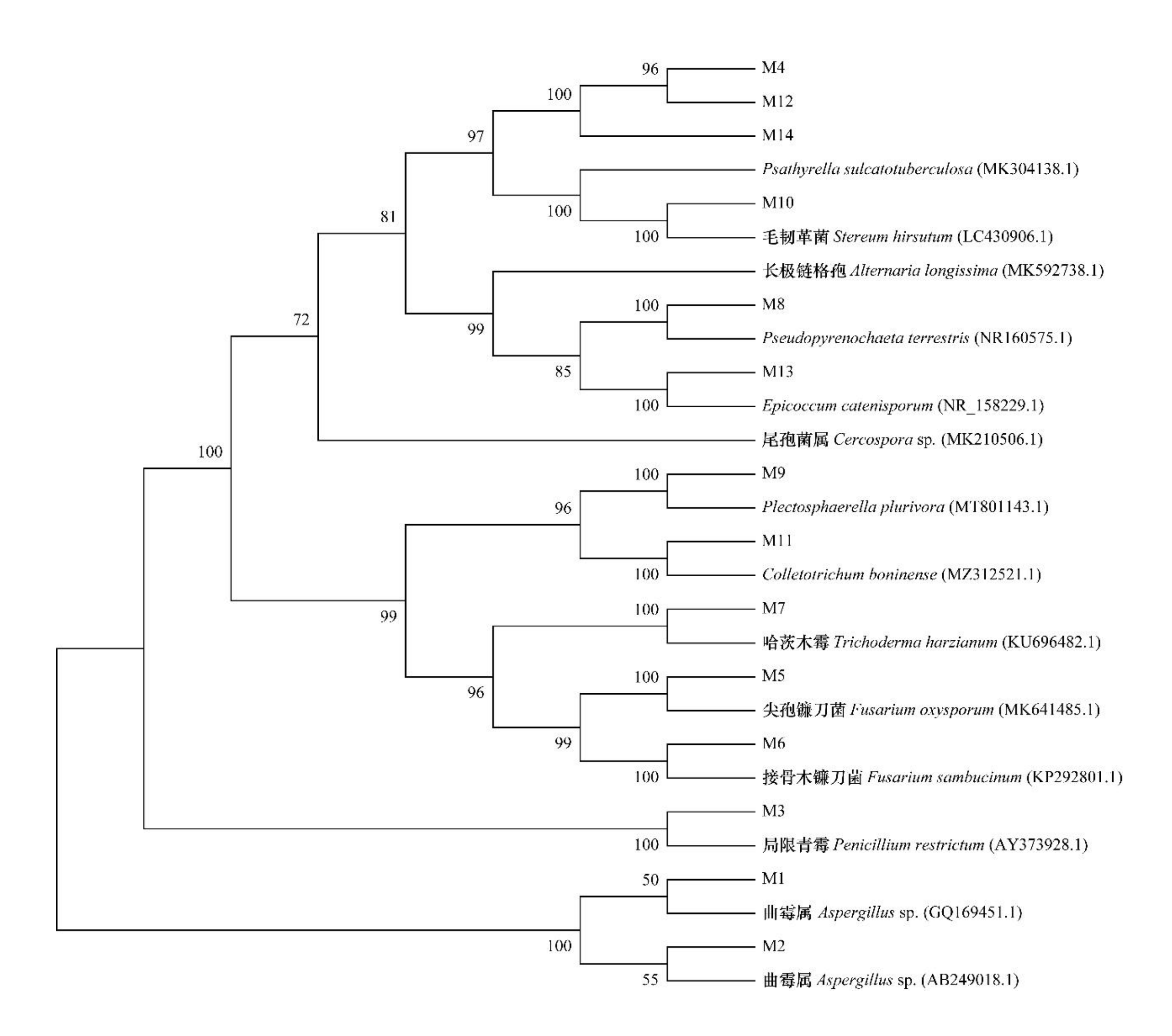
2.2.2 内生真菌的分子生物学鉴定

挑选出测序成功的 14 株不同种的内生真菌的 ITS 序列上传至 NCBI 数据库中进行核酸序列 Blast 比对，选择和测序序列相关性比较高的序列进行分析，结果表明这 14 种内生真菌大部分属于子囊菌门和担子菌门，涵盖 10 个目 13 个属，且 ITS 序列和 GenBank 相似性均在 99%以上（表 4）。基于 ITS 序列利用 MEGA7.0 采用 Neighbor-Joining 法建立系统进化树（图 2）。

表 **4** 14 株代表菌株的 ITS 序列 BLAST 比对结果

Table 4 Molecular identification of 14 representative endophytic fungi associated with *Solanum tuberosum*

分离菌株 Isolate strain	最大相似菌株 Largest similar strain	GenBank 序列号 Genbank acc. No.	相似性 Similarity (%)
M1	曲霉属 *Aspergillus* sp.	GQ169451.1	100
M2	曲霉属 *Aspergillus* sp.	AB249018.1	99.13
M3	局限青霉 *Penicillium restrictum*	AY373928.1	99.47
M4	长极链格孢 *Alternaria longissima*	MK592738.1	100
M5	尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum*	MK641485.1	100
M6	接骨木镰刀菌 *Fusarium sambucinum*	KP292801.1	99.81
M7	哈茨木霉 *Trichoderma harzianum*	KU696482.1	99.84
M8	*Pseudopyrenochaeta terrestris*	NR_160575.1	99.29
M9	*Plectosphaerella plurivora*	MT801143.1	99.11
M10	毛韧革菌 *Stereum hirsutum*	LC430906.1	99.84
M11	*Colletotrichum boninense*	MZ312521.1	99.66
M12	*Psathyrella sulcatotuberculosa*	MK304138.1	100
M13	*Epicoccum catenisporum*	NR_158229.1	100
M14	尾孢菌属 *Cercospora* sp.	MK210506.1	99.43



Bootstrap = 1 000，节间数字代表 Bootstrap 支持值; bar 代表遗传距离; M1~M14 为本实验所分离的菌株，其余的序列均来自于 GenBank 数据库。

The numbers at the branches indicate the percentages of trees from 1 000 Bootstrap replication in which the branch occurs. M1~M14 are the fungi isolated in this experiment, the other sequences are all from Genbank database.

图 2 基于内生真菌 ITS rDNA 序列所得的 14 株菌株的系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of the 14 fungi isolated from *Solanum tuberosum* deduced from the ITS rDNA sequences

2.2.3 内生真菌的组成分析

通过形态学观察（菌落观察和显微镜下菌丝体观察）及分子生物学技术（ITS）鉴定，98 株内生真菌包含 13 属 14 种(图 3)，分别为曲霉属(*Aspergillus*)、裸胞壳属(*Emericella*)、青霉属(*Penicillium*)、链格孢属(*Alternaria*)、镰刀菌属(*Fusarium*)、木霉属(*Trichoderma*)、须壳孢属（*Pseudopyrenochaeta*）、小不整球壳属（*Plectosphaerella*）、韧革菌属（*Stereum*）、刺盘孢属（*Colletotrichum*）、脆柄菇属（*Psathyrella*）、附球菌属（*Epicoccum*）和尾孢菌属（*Cercospora*）。98 株马铃薯内生真菌中，镰刀菌属真菌占 15.3%、青霉属占 13.3%，曲霉属占 12.2%。

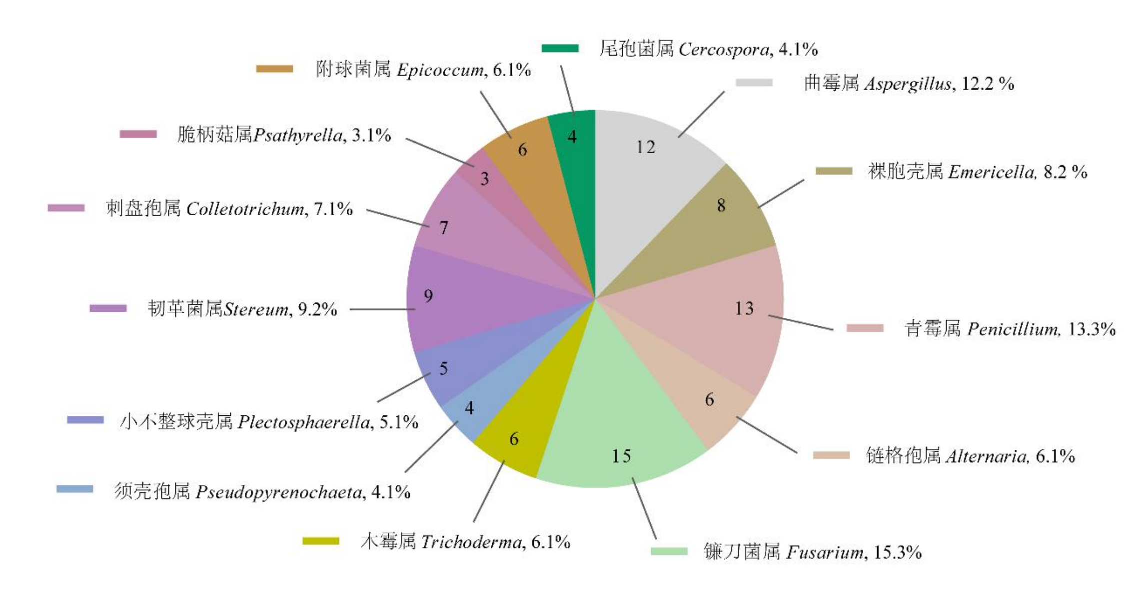


图 3 分离获得内生真菌组成比例

Fig. 3 Composition of endophytic fungi from *Solanum tuberosum*

2.3 不同地区内生真菌优势种群分析

不同地区、不同组织部位中分离得到的内生真菌在种类和数量上存在明显区别（见图 4）。德宏芒市的马铃薯样品中内生真菌优势属为青霉属和曲霉属，相对分离频率为 30.00% 和 25.00%。分离于根部的内生真菌优势属为曲霉属，IF 为 35.29%；分离于茎部的内生真菌优势属为青霉属和链格孢属，IF 均为 37.5%；分离于块茎的内生真菌优势属为青霉属，IF 为 33.30%。（图 4：A）。

大理喜洲的马铃薯样品中内生真菌优势属为裸胞壳属和刺盘孢属，相对分离频率为 29.63%和 18.52%。分离于根部的内生真菌优势属为裸胞壳属，IF 为 35.71%；分离于茎部的内生真菌优势属为附球菌属，IF 为 100.00%；分离于块茎的内生真菌优势属为刺盘孢属，IF 为 45.45%（图 4：B）。

临沧双江的马铃薯样品中内生真菌优势属为韧革菌属，相对分离频率为 29.03%。分离于根部的内生真菌优势属为韧革菌属，IF 为 46.15%；分离于茎部的内生真菌优势属为附球菌属，IF 为 75.00%；分离于块茎的内生真菌优势属为小不整球壳属，IF 为 28.57%（图 4：C）。

此外，研究还发现脆柄菇属内生真菌仅能从根部分离到，在根部的分离频率为 6.81%。

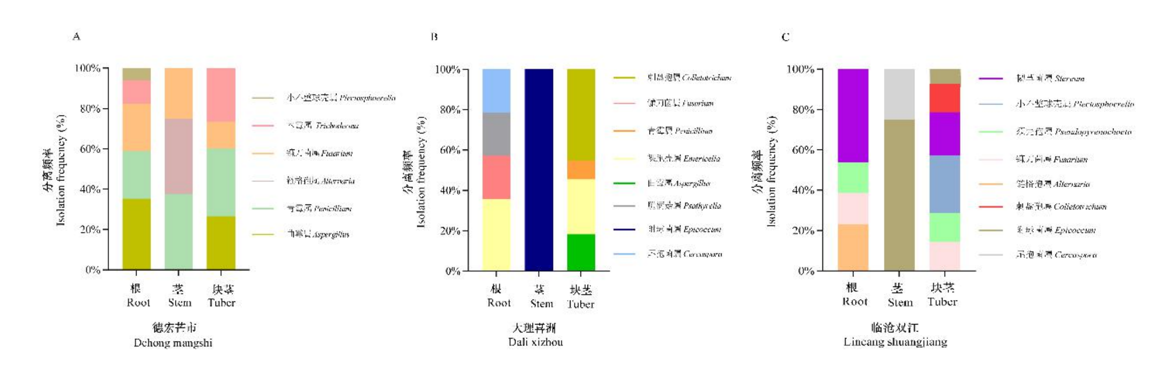


图 4 德宏芒市(A)、大理喜洲(B)和临沧双江(C)马铃薯样品各组织内生真菌的分离频率

Fig. 4 Isolation frequency of endophytic fungi in various tissues of *Solanum tuberosum* from Mangshi, Dehong (A), Xizhou, Dali (B) and Shuangjiang, Lincang (C)

2.4 不同部位内生真菌的多样性指数分析

马铃薯不同组织部位中的内生真菌多样性指数(Shannon-Weiner index, H')各不相同，且呈现出一定规律(表 5)。德宏芒市样品各组织中内生真菌多样性指数表现为 $H'_{根}$(1.42)> $H'_{块茎}$（1.26）> $H'_{茎}$（0.78）；大理喜洲样品各组织中内生真菌多样性指数大小表现为 $H'_{根}$（1.51）> $H'_{块茎}$（1.28）> $H'_{茎}$（0.28）；临沧双江样品中，各组织内生真菌多样性指数大小也表现为 $H'_{根}$（1.29）> $H'_{块茎}$（1.12）> $H'_{茎}$（0.49）。由此可见，马铃薯根部内生真菌的多样性指数高于茎部和块茎。

表 5 马铃薯不同部位内生真菌多样性指数

Table 5. Shannon-Weiner index (H') of endophytic fungi isolated from the different tissues of *Solanum tuberosum*

来源 Source	根 Root	茎 Stem	块茎 Tuber
德宏芒市 Dehong mangshi	1.42	0.78	1.26
大理喜洲 Dali xizhou	1.51	0.28	1.28
临沧双江 Lincang shuangjiang	1.29	0.49	1.12

3 讨论与结论

受真菌生活环境的影响，一些真菌的菌落形态特征十分相似，采用传统形态学分类方法对内生真菌进行鉴定和分类存在很大难度，要求鉴定者有相当丰富的经验。因此，通过观察真菌的生长环境、对比真菌菌落菌丝形态及显微结构特点，再与现代分子生物学技术相结合的方法，是更为准确可靠的鉴定手段。本研究从云南三个地区（德宏芒市、大理喜洲、临沧双江）的马铃薯根、茎和块茎中共分离到内生真菌 98 株，使用传统分类学结合 ITS 序列分析的方法将其归为 13 属 14 种，多为子囊菌门和担子菌门，优势属为镰刀菌属

和青霉属，其他菌属分别为曲霉属、裸胞壳属、链格孢属、木霉属、须壳孢属、小不整球壳属、韧革菌属、刺盘孢属、脆柄菇属、附球菌属和尾孢菌属。艾红莲等（2017）也从马铃薯内生真菌中分离到链格孢属、镰刀菌属和附球菌属。谢佳伟等（2021）从云南的 87 株烟草中分离出内生真菌 103 株，其中优势菌属也包含镰刀菌属；李盼盼等（2018）从湖北的健康烟草中共分离获得 539 株内生真菌，镰刀菌属也是优势菌属，说明镰刀菌属广泛存在于茄科植物中。此外，本研究中分离鉴定的 5 种内生真菌褶皱裸胞壳（*Emericella rugulosa*）、接骨木镰刀菌（*Fusarium sambucinum*）、毛韧革菌（*Stereum hirsutum*）、*Psathyrella sulcatotuberculosa* 和 *Epicoccum catenisporum* 为首次从马铃薯植株中分离得到。

本研究采用组织块分离法共分离了 180 块马铃薯组织块，长菌的组织块为 126 块，总定殖率为 70%，对于马铃薯内生真菌总定殖率未见学者报道过，而李晓娜等（2009）对于橡胶树中内生真菌的研究显示总定殖率为 91.94%，结果高于本试验，可能和材料本身的科属有关，马铃薯为茄科一年生草本植物，橡胶树为大戟科多年生木本植物，由于马铃薯生长周期较短，外界的微生物侵染率低，导致其定殖率较低，而橡胶树生长周期长，外界的微生物侵染率高，因此它的定殖率高。从不同组织的分离数量来看，块茎定殖率最高，说明马铃薯块茎中受内生真菌侵染度最高，这可能与地下部分的微生物活动及养分有关联；根部分离率最高，说明马铃薯根部分离得到的内生真菌属丰度最高，这可能与土壤中微生物含量和种类有关系。不同地区（来源）及不同组织中内生真菌多样性指数趋势均为 $H'_{根}>H'_{块茎}>H'_{茎}$，这可能是由于茎部采自马铃薯地上部分，根部和块茎采自马铃薯地下部分，而空气中内生真菌感染率要比土壤中内生真菌感染率低。李盼盼等（2018）对湖北烟草不同组织中的内生真菌多样性表现研究结果为 $H'_{茎}>H'_{叶}>H'_{根}$，与本结果相反，说明不同地区不同物种植物中内生真菌的组织偏好性不一样。

本研究还发现各组织中分布的内生真菌种类差别较大，德宏芒市马铃薯样品中优势菌为青霉菌；大理喜洲样品中优势菌为翘孢霉菌；临沧双江样品中优势菌为韧革菌。此外，一些常见的内生真菌（如链格孢属、镰刀菌属）在茎和根中均能够分离得到，而 *Psathyrella* 仅能从根部分离到，韧革菌属不能在茎中分离到。刘宏玉等（2021）对烟草进行研究发现叶点霉属（*Phyllosticta*）只分布在其叶中，而 *Fusarium* 不能从叶中分离得到，说明内生真菌具有组织的专一性和特异性（Huang et al., 2008）。

本研究从云南省三个地区的马铃薯样品中分离得到 98 株内生真菌，其中 5 种内生真菌为首次从马铃薯植株中分离得到，丰富了马铃薯内生真菌种群，为马铃薯内生真菌多样性的研究提供了准确的参考数据。后期将进一步进行内生真菌拮抗马铃薯病原真菌的活性

筛选，并对其次生代谢产物进行化学成分和抗菌活性研究，期望获得结构新颖的高活性物质，为马铃薯真菌病害的生物防治提供科学基础和依据。

参考文献

AI HL, YANG MS, HE J, et al., 2017. Diversity and antibacterial activity of endophytic fungi isolated from *Solanum tuberosum* L.[J]. J S-Cent Univ Natl (Nat Sci Ed), 36(4): 51-55. [艾洪莲，杨曼思，何隽，等，2017. 马铃薯内生真菌的多样性及抑菌活性研究[J]. 中南民族大学学报(自然科学版)，36（4）：51-55.]

CAO J, LIU B, XU X, et al., 2021. Plant endophytic fungus extract ZNC improved potato immunity, yield, and quality[J]. Front Plant Sci, 12: 1969.

CHAI XY, ZHONG YY, 2017. Community composition and diversity of endophytic fungi from the fruits of *Pteroceltis tatarinowii*[J]. Chin J Appl Ecol, 28(2): 636-642. [柴新义，钟媛媛，2017. 青檀果内生真菌菌群的组成及多样性[J]. 应用生态学报，28（2）：636-642.]

DAI FL, 1987. Fungal morphology and classification[M]. Beijing: Science Press. [戴芳澜，1987. 真菌的形态和分类[M]. 北京：科学出版社.]

HUANG T, XIE W, LIU XD, et al., 2019. Isolation and identification of endophytic fungi from *Chelidonium majus* and their antifungal activity[J]. Chin J Chin Mat Med, 44(3): 460-464. [黄婷，解伟，刘小东，等，2019. 白屈菜内生真菌的分离鉴定及其代谢产物的抗真菌活性研究[J]. 中国中药杂志，44（3）：460-464.]

HUANG W, CAI Y, HYDE KD., et al., 2008. Biodiversity of endophytic fungi associated with 29 traditional Chinese medicinal plants[J]. Fung Divers, 33(61): 61-75.

KANG Q, 2017. Study on endophytic fungi and antibacterial active constituents from two strains of pteris hirsutum south China[D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University. [康茜，2017. 两株华南毛蕨内生真菌及苦玄参抗菌活性成分的研究[D]. 广州：广东药科大学.]

KATIA, ELSON, RUDIMAR, et al., 2016. Endophytism and bioactivity of endophytic fungi isolated from *Combretum lanceolatum* Pohl ex Eichler[J]. Symbiosis, 71(3): 211-222.

LI CJ, GAO JH, NAN ZB, 2007. Interactions of Neotyphodium gansuense, Achnatherum inebrians, and plant-pathogenic fungi[J]. Mycol Res, 111(10):1220-1227.

LI HY, YUE JY, WANG JT, et al., 2022. Study on secondary metabolites of plant endophytic fungus *Fusarium guttiforme*[J]. Nat Prod Res Dev, 34(7): 1143-1147. [李慧媛，岳婧怡，王举涛，等，2022. 植物内生真菌 *Fusarium guttiforme* 次生代谢产物研究[J]. 天然产物研究与开发，34(7)：1143-1147.]

LI PP, YUAN XL, LI JH, et al., 2018. Analysis of biodiversity and population structure of endophytic fungi of tobacco in Hubei[J]. Acta Microbiol Sin, 58(10): 1853-1863. [李盼盼，袁晓龙，李金海，等，2018. 湖北烟草内生真菌生物多样性和种群结构分析[J]. 微生物学报，58(10)：1853-1863.]

LI XN, WANG Y, LI ZP, et al., 2009. Separation of endophytic fungi in *Hevea brasiliensis*[J]. Chin J Trop Agric, 29(6): 5-8. [李晓娜，王赟，李增平，等，2009. 橡胶树内生真菌分离方法研究[J]. 热带农业科学，29(6)：5-8.]

LIU HY, JIN HQ, WANG JY, et al., 2015. Diversity and community composition of endophytic fungi in tobacco[J]. Mycosystema, 34(6): 1058-1067. [刘宏玉，金慧清，王佳莹，等，2015. 烟草内生真菌多样性和种群结构[J]. 菌物学报，34(6)：1058-1067.]

LU JM, ZHANG JH, MING QL, et al., 2022. Screening, identification, and antifungal activity of

endophytic fungi from *Crocus sativus* and their antagonistic mechanism[J]. Chin Trad Herb Drugs, 53(10): 3165-3170. [陆洁淼，张家豪，明乾良，等，2022. 西红花球茎腐烂病拮抗真菌的筛选、鉴定及抑菌机制[J]. 中草药，53(10)：3165-3170.]

LU LL, BAO LX, LIU LY, et al., 2018. Analysis about potato industry and trade of Yunnan Province[J]. Crop Res, (3): 227-233. [卢丽丽，包丽仙，刘凌云，等，2018. 云南省马铃薯产业及贸易分析[J]. 作物研究，(3)：227-233.]

MA X, DIAO XQ, GUAN HN, et al., 2014. The changes of phenols content and related enzymes activity during endo-dormancy period in potato[J]. Shanxi Agric Sci, 42(1): 66-68. [马雪，刁小琴，关海宁，等，2014. 窖藏马铃薯酚类物质及相关酶活性的变化与自然休眠的关系[J]. 山西农业科学，42（1）：66-68.]

PORRAS A, BAYMAN P, 2011. Hidden fungi, emergent properties: endophytes and microbiomes[J]. Ann Rev Phytopathol, 49: 291-315.

REN J, 2020. Progress of research on endophytic fungi and their metabolites in medicinal plants[J]. Agric Technol, 40(16): 27-28. [任静，2020. 药用植物内生真菌及其代谢产物研究进展[J]. 农业与技术，40(16)：27-28.]

SESSITSCH A, REITER B, BERG G, 2004. Endophytic bacterial communities of field-grown potato plants and their plant-growth-promoting and antagonistic abilities[J]. Can J Microbiol, 50(4): 239-249.

SUI L, WAN TY, LU Y, et al., 2021. Review of fungal endophytes on plant growth promotion and stress resistance[J]. Chin J Biol Control, 37(6) : 1325-1331. [隋丽，万婷玉，路杨，等，2021. 内生真菌对植物促生、抗逆作用研究进展[J]. 中国生物防治学报，37(6)：1325-1331.]

SUN JH, 2018. Isolation, Identification and their bioactivity of endophytic fungi from five plants [D]. Lanzhou : Lanzhou University of Technology. [孙建慧，2018. 五种植物内生真菌的分离纯化及生物活性研究[D]. 兰州：兰州理工大学.]

WANG JF, 2012. Isolation and purification of potato endophytic bacteria and their effects on potato growth and development[D]. Lanzhou: Lanzhou University of Technology. [王剑峰，2012. 马铃薯内生菌的分离纯化及其对马铃薯生长发育的影响[D]. 兰州：兰州理工大学.]

WEI JC, 1979. Fungal identificacion manual[M]. Shanghai: Shanghai Scientific & and Technology Press. [魏景超，1979. 真菌鉴定手册[M]. 上海：上海科学技术出版社.]

WEI YM, ZHOU YQ, LI L, et al., 2016. Divetsity of endophytic fungi associated with *Bletilla striata*[J]. Guihaia, 36(7): 832-836. [韦艳梅，周雅琴，李力，等，2016. 白及内生真菌多样性研究[J]. 广西植物，36（7）：832-836.]

WU QT, REN HJ, QIN Y, et al., 2022. Antagonism of fusarium albicans endophytic fungus AM569 against three species of *Fusarium* and its ITS molecular identification[J]. J Zhejiang Agric Sci, 63(6): 1257-1261. [吴启婷，任航洁，秦晔，等，2022. 白术内生真菌 AM569 对 3 种镰刀菌的拮抗作用及其 ITS 分子鉴定[J]. 浙江农业科学，63（6）：1257-1261.]

WU SM, 2012. The "underground apple" potato[J]. Farm Prod Process, (5): 13. [邬时民，2012. “地下苹果”土豆[J]. 农产品加工，（5）：13.]

WU XP, WANG L, XIE BG, et al., 2009. Studies on virus-free strain of lentinula edodes[J]. Chin Agric Sci Bull, 25(24): 44-49. [吴小平，王丽，谢宝贵，等，2009.香菇菌株的脱毒研究[J]. 中国农学通报，25（24）：44-49.]

XIE JW, PENG XS, CHEN XQ, et al., 2021. Diversity of endophytic fungi from Yunyan87 and evaluation of growth promoting[J]. J Yunnan Agric Univ (Nat Sci), 36(6): 1000-1008. [谢佳伟，彭小祠，陈小巧，等，2021.云烟 87 内生真菌多样性及其促生作用评估[J]. 云南农业大学

学报（自然科学），36（6）：1000-1008.]

YI TF, WU YG, YU J, et al., 2019. Isolation and identification of endophytic fungi from Hainan pogostemon cablin and screening of antagonistic strains[J]. Chin J Trop Crops, 40(8): 1598-1605. [易天凤，吴友根，于靖，等，2019. 海南广藿香内生真菌分离鉴定及拮抗菌株筛选[J]. 热带作物学报，40（8）：1598-1605.]

YI XH, 2009. Plant secondary metabolites of endophytic fungi research[J]. Chin Agric Sci Bull, 25(21): 255-260. [易晓华，2009. 植物内生真菌次生代谢产物研究进展[J]. 中国农学通报，25（21）：255-260.]

ZHANG JX, 2022. Isolation of potato endophytes and the screening of *Chaetomium globosum* antimicrobial peptides[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University. [张家欣，2022. 马铃薯内生菌的分离鉴定及 *Chaetomium globosum* 抗菌肽的筛选[D]. 武汉：华中农业大学.]

ZHANG L, SANG MM, GUO XW, et al., 2017. Diversity of endophytic fungi isolated from *Eucommia ulmoides* and their antifungal activity against phytopathogenic fungi[J]. Biotic Resour, 39(1): 48-52. [张亮，桑曼曼，郭小伟，等，2017. 杜仲内生真菌的多样性分析及其抗植物病原真菌的活性[J]. 生物资源，39（1）：48-52.]

ZHANG MB, PAN LJ, FAN GQ, et al., 2009. Genomic DNA extraction method of polysaccharide rich transgenic *Dendrobium*[J]. Mol Plant Breed, 7(1): 209-214. [张妙彬，潘丽晶，范干群，等，2009. 富含多糖的转基因石斛基因组 DNA 提取方法[J]. 分子植物育种，7（1）：209-214.]

ZHAO X, ZHAO LL, WANG PC, et al., 2020. Research progress of endophytic fungi and arbuscular mycorrhizal fungi in improving plant adaptability to adverse conditions[J]. J Yunnan Univ (Nat Sci), 42(3): 577-591. [赵鑫，赵丽丽，王普昶，等，2020. 内生真菌和丛枝菌根真菌提高植物逆境适应性研究进展[J]. 云南大学学报（自然科学版），42（3）：577-591.]

ZHAO XL, HU ZJ, HOU DY, et al., 2020. Biodiversity and antifungal potential of endophytic fungi from the medicinal plant cornus officinalis[J]. Symbiosis, 81(3): 223-233.

ZHENG X, 2019. Isolation and identification of endophytes from potato tubers and inhibition on solanine functions[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences. [郑旭，2019. 马铃薯内生菌的分离鉴定及抑龙葵碱功能研究[D]. 北京：中国农业科学院.]